Test CEDIA® Amphétamines

Thermo SCIENTIFIC

IVD **Pour usage diagnostique in vitro**

REF 100092 (Coffert de 65 ml)
1661205 (Coffert de 495 ml)

Application
Le test CEDIA® Amphétamines est un dispositif médical de diagnostic in vitro permettant le dosage qualitatif et semi-quantitatif d'amphétamines dans l'urine humaine.

Ce test ne fournit qu'un résultat préliminaire. Il est nécessaire de confirmer les résultats analytiques obtenus à l'aide d'une méthode chimique alternative de diagnostic plus spécifique. Utiliser alors de préférence la chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM).[1] Les résultats de ce test doivent être interprétés en tenant compte du tableau clinique et de l'avis d'un professionnel avant de conclure à une drogue utilisée par les toxicomanes, en particulier si des résultats positifs préliminaires sont utilisés.

Résumé et description du test
Les amphétamines et leurs dérivés sont classifiés comme des amines sympathomimétiques ayant une activité stimulante sur le SNC.[2-4] Elles engendrent une addiction psychologique et physiologique; leurs effets comprennent l'excitation, la vigilance, l'euphorie, la réduction de l'appétit et une diminution de la sensation de fatigue.[3,4] À faibles doses, les effets secondaires comprennent l'irritabilité, l'anxiété, l'insomnie, des troubles de la vision, une élévation de la pression artérielle et des palpitations cardiaques.[3,4] À doses élevées, les toxicomanes chroniques peuvent développer une psychose apparemment identique à une schizophrénie aiguë.[3,4]

Les amphétamines sont rapidement absorbées par l'appareil gastro-intestinal et diffusées à travers le corps.[2, 4] Environ 70% d'une dose est éliminée dans les urines au cours des 24 heures après l'ingestion; en fonction du pH urinaire, environ 30% de la dose est excrétée sous forme moléculaire inchangée et le reste sous forme de métabolites. Environ 62% d'une dose de méthamphétamines est éliminée dans les urines au cours des 24 heures après l'ingestion; environ 43% de la dose est excrétée sous forme moléculaire inchangée et le reste sous forme de métabolites, dont des amphétamines.[2,4-6] Les amphétamines peuvent demeurer décelables dans l'urine pendant 3 ou 4 jours après leur ingestion.[5]

Le test CEDIA Amphétamines utilise la technologie de l'ADN recombinant (brevet américain n° 4708929) pour produire une méthode immuno-enzymatique en phase homogène unique.[7] Ce test utilise l'enzyme bactérienne ß-galactosidase scindée au préalable en deux fragments inactifs par génie génétique. Ces fragments se réassocient spontanément pour former une enzyme pleinement active qui, lors de la réaction, fragmente un substrat, produisant un changement de coloration que l'on peut mesurer par spectrophotométrie.

Au cours du test, la drogue contenue dans l'échantillon entre en compétition avec la drogue conjuguée à un des fragments inactifs de la ß-galactosidase pour se fixer sur les sites de liaison des anticorps. Si la drogue est présente dans l'échantillon, elle se lie aux anticorps, laissant ainsi les fragments inactifs de l'enzyme former une enzyme active. Si l'échantillon ne contient pas de drogue, les anticorps se lient à la drogue conjuguée au fragment inactif, empêchant la réassociation des fragments inactifs de ß-galactosidase, ce qui empêche la formation d'une enzyme active. La quantité d'enzyme active formée et la modification de l'absorbance correspondante sont proportionnelles à la quantité de drogue dans l'échantillon.

Réactifs
1 **Tampon de reconstitution EA :** Contient N-pipérazine, N-bis [2 -acide éthane sulfonique], sels tampons et conservateur.

1a **Réactif EA :** Contient 0,156 g/l d'EA, 7,081 mg/l d'anticorps monoclonaux dirigés contre les d-amphétamines et 7,081 mg/L d'anticorps monoclonaux dirigés contre les d-méthamphétamines, sels tampons, détergent et conservateur.

2 **Tampon de reconstitution ED :** Contient un tampon de N-pipérazine, N-bis [2 -acide éthane sulfonique], sels tampons et conservateur.

2a **Réactif ED :** Contient 7,12 µg/l d'ED conjugué à des d-amphétamines et 11,3 µg/l d'ED conjugué à des d-méthamphétamines, 1,67 g/l de chlorophénol rouge-ß-D-galactopyranoside, stabilisant et conservateur.

Matériel supplémentaire:
Étiquettes à code-barre de remplacement (réf. 100092 seulement. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour le mode d'emploi). Flacon vide d'analyseur pour le transvasement des solutions EA/ED (réf. 100092). Flacon vide d'analyseur pour le transvasement de la solution ED (réf. 1661205 seulement).

Matériel supplémentaire requis (vendu individuellement) :

REF	Description du coffret
1557416	Calibrateur négatif CEDIA
1815326	Calibrateur multi-drogues CEDIA, Seuils primaires (1 000 ng/ml)
1730428	Calibrateur multi-drogues CEDIA, Seuils secondaires (500 ng/ml)
1730380	Calibrateur multi-drogues CEDIA moyen
1730398	Calibrateur multi-drogues CEDIA élevé
100200	Série de contrôles pour le dosage de toxicomanogènes dans l'urine MGC Primary
100201	Série de contrôles pour le dosage de toxicomanogènes dans l'urine MGC Clinical

⚠ Avertissements et mises en garde
Les réactifs contiennent de l'azide de sodium. Éviter tout contact avec la peau et les muqueuses. En cas de contact, rincer à grande eau. En cas de projection dans l'oeil ou d'ingestion, consulter immédiatement un médecin. L'azide de sodium peut réagir dans les conduites de plomb ou de cuivre et former des azides métalliques explosifs. Pour éliminer les réactifs, il est donc nécessaire de rincer abondamment à l'eau afin d'éviter toute accumulation d'azides. Nettoyer les surfaces métalliques exposées avec de la soude caustique à 10%.

Préparation et conservation des réactifs
Pour tous les autres analyseurs, se référer à la fiche technique spécifique de chaque appareil. Sortir le kit du réfrigérateur immédiatement avant la préparation des solutions.

Préparer les solutions dans l'ordre ci-dessous afin de réduire le risque d'une éventuelle contamination.

Solution ED R2: Relier le flacon 2a (réactif ED) au flacon 2 (tampon de reconstitution ED) à l'aide de l'un des raccords fournis. Mélanger en retournant doucement le flacon et en veillant à ce que le lyophilisat du flacon 2a soit entièrement transvasé dans le flacon 2. Éviter la formation de mousse. Détacher du flacon 2 le flacon 2a et le raccord, et les jeter. Reboucher le flacon 2 et le laisser reposer debout pendant environ 5 minutes à température ambiante (15 à 25°C). Mélanger à nouveau. Inscrire la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon.

Solution EA R1: Relier le flacon 1a (réactif EA) au flacon 1 (tampon de reconstitution EA) à l'aide de l'un des raccords fournis. Mélanger en retournant doucement le flacon et en veillant à ce que le lyophilisat du flacon 1a soit entièrement transvasé dans le flacon 1. Éviter la formation de mousse. Détacher du flacon 1 le flacon 1a et le raccord, et les jeter. Reboucher le flacon 1 et le laisser reposer debout pendant environ 5 minutes à température ambiante (15 à 25°C). Mélanger à nouveau. Inscrire la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon.

Réf 100092 - ***Analyseur Hitachi 717, 911, 912 ou 914:*** Transvaser les réactifs reconstitués dans les flacons vides correspondants de 100 ml R1 et R2 fournis avec le kit. ***Système Hitachi 917 Modular Analytics P:*** Utiliserm les réactifs reconstitués sans transvaser les flacons. Jeter les flacons de 100 ml vides.
Réf 1661205 - ***Analyseur Hitachi 747:*** À l'aide de l'entonnoir fourni, transférer une partie de la solution R2 dans le flacon de solution R2 vide fourni et portant l'étiquette correspondante.

REMARQUE 1: Les composants contenus dans ce kit doivent être utilisés ensemble. Ne pas mélanger de composants provenant de lots différents.
REMARQUE 2: Veiller à ne pas intervertir les bouchons des flacons de réactifs pour éviter toute contamination croisée des réactifs. La solution R2 doit être jaune orangé. Une coloration rouge sombre ou rouge violacé signifie que le réactif est contaminé et doit être éliminé.
REMARQUE 3: Les solutions R1 et R2 doivent être amenées à la température du compartiment de stockage de l'analyseur avant de procéder au test. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour toute information complémentaire.
REMARQUE 4: Pour assurer la stabilité du réactif EA reconstitué, ne pas l'exposer de façon permanente et prolongée à une lumière vive.

Conserver les réactifs CEDIA entre 2 et 8°C. NE PAS CONGELER. Pour la stabilité des composants non ouverts, se référer à la date de péremption figurant sur l'étiquetage de la boîte ou des flacons.

Solution R1: 45 jours réfrigérée dans l'analyseur ou entre 2 et 8°C.
Solution R2: 45 jours réfrigérée dans l'analyseur ou entre 2 et 8°C.

Prélèvement et manipulation des échantillons
Recueillir les échantillons d'urine dans des récipients propres en verre ou en plastique. Centrifuger les échantillons présentant une forte turbidité avant de les analyser. Tout échantillon d'urine humaine doit être manipulé comme étant potentiellement infectieux. Recueillir et tester un nouvel échantillon si on soupçonne une adultération de l'échantillon d'origine. L'adultération des échantillons d'urine peut affecter les résultats du test.

The Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs; Final Guidelines; Notice recommande que tout échantillon qui n'est pas initialement testé dans les 7 jours suivant son arrivée au laboratoire soit conservé dans un réfrigérateur en milieu fermé.[8]

Procédure du test
Pour réaliser ce test, on peut utiliser un analyseur chimique capable de maintenir une température constante, de prélever des échantillons à la pipette, de mélanger des réactifs, de mesurer des taux enzymatiques et d'assurer le minutage de la réaction. Des fiches techniques avec les paramètres spécifiques de l'instrument sont disponibles auprès de Microgenics, une division de Thermo Fisher Scientific.

Des étiquettes à code-barres supplémentaires sont fournies pour une détermination semi-quantitative seulement avec les kits de 17 et de 65 ml. Pour les utiliser, recouvrir l'étiquette de chaque flacon de celle qui convient.

Contrôle qualité et calibration[9]

Analyse qualitative

Pour réaliser une **analyse d'échantillons qualitative**, utiliser le calibrateur multi-drogues CEDIA, Seuils primaires ou secondaires (en fonction du seuil choisi) pour analyser les résultats. Se référer à la fiche technique spécifique de chaque analyseur.

Analyse semi-quantitative

Protocole utilisant un seuil de 500 ng/ml: Pour réaliser une analyse d'échantillons **semi-quantitative**, utiliser le calibrateur multi-drogues CEDIA, Seuils secondaires, Seuils primaires, le calibrateur négatif et le calibrateur multi-drogues moyen.

Protocole utilisant un seuil de 1 000 ng/ml: Pour réaliser une analyse d'échantillons **semi-quantitative**, utiliser le calibrateur multi-drogues, Seuils primaires, le calibrateur négatif et les calibrateurs multi-drogues moyen et élevé.

Les bonnes pratiques de laboratoire suggèrent d'analyser les contrôles chaque jour où des échantillons patients sont testés et à chaque fois qu'une calibration est effectuée. Il est recommandé d'utiliser deux niveaux de contrôles : l'un de 25% supérieur au seuil, l'autre de 25% inférieur au seuil sélectionné. Recalibrer le test en cas de changement de réactifs ou si les résultats des contrôles se situent hors des limites établies. L'évaluation du contrôle qualité doit se baser sur les valeurs obtenues par les contrôles, qui doivent se situer dans les limites spécifiées. En cas de détection d'une tendance à la hausse ou à la baisse ou de décalages soudains, vérifier tous les paramètres de fonctionnement. Pour plus de renseignements, s'adresser au service technique Thermofisher Scientific. Toutes les exigences de contrôle qualité doivent être appliquées conformément aux règlements locaux, régionaux et nationaux ou aux conditions d'agrément.

Résultats et valeurs attendus

Résultats qualitatifs

Le calibrateur multi-drogues CEDIA, Seuils primaires ou secondaires (contenant respectivement 1 000 ng/ml et 500 ng/ml de d-méthamphétamines) sert de référence pour différencier les échantillons positifs des échantillons négatifs. Les échantillons générant une réponse dont la valeur est égale ou supérieure à celle du calibrateur sont considérés comme positifs. Les échantillons générant une réponse dont la valeur est inférieure à celle du calibrateur sont considérés comme négatifs. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour plus d'informations.

Résultats semi-quantitatifs

Protocole utilisant un seuil de 500 ng/ml: Le calibrateur multi-drogues, Seuils secondaires, utilisé en conjonction avec le calibrateur négatif et multi-drogues, Seuils primaires, ainsi qu'avec le calibrateur multi-drogues moyen, peut être utilisé pour estimer la concentration relative d'amphétamines. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour des informations plus détaillées.

Protocole utilisant un seuil de 1 000 ng/ml: Le calibrateur multi-drogues, Seuils primaires, utilisé en conjonction avec les calibrateurs négatif et multi-drogues moyen et élevé, peut être utilisé pour estimer la concentration relative d'amphétamines. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour des informations plus détaillées.

Les résultats de concentration doivent être rapportés avec prudence car de nombreux autres facteurs sont susceptibles de fausser les résultats d'un test urinaire, tels que l'apport hydrique et autres facteurs biologiques.

Limitations

1. Un résultat positif au test indique la présence d'amphétamines dans l'échantillon; il n'indique ni ne mesure une intoxication.
2. D'autres substances et/ou facteurs non répertoriés peuvent perturber le test et provoquer des résultats erronés (erreurs techniques ou de procédure).

Performances spécifiques

Les résultats de performance effectifs indiqués ci-dessous ont été obtenus avec un analyseur Hitachi 717.[10] Les résultats obtenus dans un laboratoire peuvent être différents de ces données.

Précision

La précision de mesure a été étudiée avec un analyseur Hitachi 717 en utilisant les réactifs, les calibrateurs et les contrôles fournis dans le conditionnement et en suivant un protocole de réplication modifié NCCLS. Les résultats ci-dessous en mA/mn ont été obtenus.

Précision dans la série				
ng/ml	500*	750**	1 000**	1 250**
n	120	120	120	120
$\bar{x}$	276,9	259,1	281,6	300,5
SD	2,5	2,4	2,6	2,8
% C V	0,9	0,9	0,9	0,9

Précision totale				
ng/ml	500*	750**	1 000**	1 250**
n	120	120	120	120
$\bar{x}$	276,9	259,1	281,6	300,5
SD	9,4	8,4	8,6	9,9
% C V	3,4	3,2	3,1	3,3

* Déterminé utilisant le protocol seuil 500 ng/ml

** Déterminé utilisant le protocol seuil 1 000 ng/ml

Exactitude

Des échantillons urinaires ont été soumis au test CEDIA Amphétamines sur l'analyseur Hitachi 717 en utilisant les méthodes FPIA et EIA disponibles dans le commerce comme références. Les résultats suivants ont été obtenus:[10]

A. Seuil de 500 ng/ml

FPIA		CEDIA +	CEDIA -
	+	195	4
	-	5	89

B. Seuil de 1 000 ng/ml

EIA		CEDIA +	CEDIA -
	+	150	6
	-	10	539

Spécificité

Aux concentrations indiquées, les composés suivants ont produit un résultat positif par rapport au calibrateur seuil lors du test avec le dosage CEDIA Amphétamine.

Composé	Seuil 500 ng/ml Concentration ng/ml	Seuil de 1000 ng/ml Concentration ng/ml
d-amphétamine	500	1 000
d,l-amphétamine	1 000	2 000
l-amphétamine	17 000	34 000
d-méthamphétamine	500	1 000
d,l-méthamphétamine	1 000	2 000
l-méthamphétamine	6 000	12 000
3,4-méthylènedioxy-amphétamine (MDA)	40 000	80 000
3,4-méthylènedioxy-éthylamphétamine (MDEA)	2 500	5 000
3,4-méthylènedioxy-méthamphétamine (MDMA)	1 000	2 000

Aux concentrations indiquées, les composés suivants ont produit un résultat négatif par rapport au calibrateur seuil de 500 ng/ml lors du test avec le dosage CEDIA Amphétamine.

Composé	Concentration ng/ml	Composé	Concentration ng/ml
Paracétamol	500 000	Méthadone	500 000
Acide acétylsalicylique	500 000	Morphine	100 000
Amoxicilline	100 000	Nifédipine	500 000
Benzoylecgonine	500 000	Phencyclidine	500 000
Captopril	500 000	Phénobarbital	500 000
Chlordiazépoxide	500 000	Phentermine	25 000
Cimétidine	500 000	d,l-phénylpropanolamine	150 000
Codéine	100 000	Propoxyphène	500 000
Diazépam	500 000	d-pseudoéphédrine	80 000
Digoxine	100 000	Ranitidine	100 000
Enalapril	500 000	Acide salicylurique	500 000
l-éphédrine	100 000	Sécobarbital	500 000
Fluoxétine	500 000	11-nor-Δ9-THC-COOH	10 000
Ibuprofène	500 000	Vérapamil	500 000
Lévothyroxine	50 000		

Aucune interférence n'a été observée lorsque les substances suivantes ont été ajoutées aux concentrations endogènes normales trouvées dans les urines soumises au test CEDIA Amphétamines :

Substance	Concentration	Substance	Concentration
Acétone	≤ 1,0 g/dl	Éthanol	≤ 1,0 g/dl
Acide ascorbique	≤ 1,5 g/dl	Galactose	≤ 10 mg/dl
Acide oxalique	≤ 0,1 g/dl	γ-globulin	≤ 0,5 g/dl
Albumine sérique humaine	≤ 0,5 g/dl	Glucose	≤ 1,5 g/dl
Chlorure de sodium	≤ 6 ,0 g/dl	Hémoglobine	≤ 0,3 g/dl
Créatinine	≤ 0,5 g/dl	Riboflavin	≤ 7,5 mg/dl
		Urée	≤ 2,0 g/dl

Sensibilité

Pour l'analyse qualitative, la limite de détection se situait à 27 ng/ml et à 47 ng/ml pour les protocoles utilisant respectivement un seuil de 500 et de 1 000 ng/ml.

Pour l'analyse semi-quantitative, la limite de détection se situait à 118 ng/ml et à 175 ng/ml pour les protocoles utilisant respectivement un seuil de 500 et de 1 000 ng/ml.

Bibliographie

1. Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks, RL, Chiang, C N, eds. *Urine Testing for Drugs of Abuse*. NIDA Research Monograph 1986:**73**:30-41
2. *Physicians' Desk Reference*. 47th ed. Oradell, NJ: Medical Economics Books; 1993.
3. Julien RM. *A Primer of Drug Action*. 6th ed. New York, NY: WH Freeman & Co; 1992
4. Miller NS, Gold MS. Amphetamine and its derivatives. In: Giannini AJ, Slaby AE, eds. *Drugs of Abuse*. Oradell, NJ: Medical Economics Books; 1989.
5. Busto U, Bendayan R, Sellers EM. Clinical pharmacokinetics of non opiate abused drugs. *Clin Pharmacokinetics*. 1989, 16: 1-26.
6. Baselt RC, Cravey RH. *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*. 4th ed. Foster City, Calif.: Chemical Toxicology Instititute; 1995
7. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD. et al. CEDIA®, a new homogeneous immunoassay system. *Clin Chem*. 1986; **32:** 1637- 1641
8. *Notice of Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program:* Revised Mandatory Guidelines. Federal Register. 1994, **110** (June 9): 11983 (Revised Guidelines expected in 2002.)
9. Data on traceability are on file at Microgenics Corporation, part of Thermo Fisher Scientific.
10. Data on file at Microgenics Corporation, part of Thermo Fisher Scientific.

Microgenics Corporation
46360 Fremont Blvd.
Fremont, CA 94538-6406 États-Unis
Appel gratuit aux États-Unis:
1-800-232-3342

EC REP
Microgenics GmbH
Spitalhofstrasse 94
D-94032 Passau Germany
Tel: +49 (0) 851 886 89 0
Fax: +49 (0) 851 886 89 10

Pour des mises à jour de la notice, consulter:
www.thermoscientific.com

Autres pays :
Contacter le représentant local de Thermo Fisher Scientific.

10006424-1
2010 06

Thermo SCIENTIFIC